

ВПЛИВ КОРЕНЕВИХ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ ГІБРИДІВ СОНЯШНИКУ НА РІСТ І РОЗВИТОК ГРИБА *ALTERNARIA ALTERNATA* (FR.) KEISS

А.І. Парфенюк¹, Ю.А. Туровнік¹, В.В. Круть²

¹ Інститут агроекології і природокористування НААН

² Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

*Наведено результати оцінювання впливу екзометаболітів гібридів соняшнику: Душко, Олівер та Оскар на ріст і розвиток гриба *Alternaria alternata* (Fr.) Keiss. Встановлено, що екзометаболіти рослин різних гібридів соняшнику можуть як пригнічувати, так і стимулювати швидкість радіального росту міцелію фітопатогенного гриба. У ході досліджень було виявлено бактерії роду *Micrococcus* sp., які колонізували колонії гриба *A. alternata*. Ці бактерії мають здатність утворювати стабільні асоціації з рослинами і можуть брати участь у їх стійкості до шкідливої дії фітопатогенних мікроорганізмів, а також сприяти росту і розвитку рослин.*

Ключові слова: гібриди соняшнику, екзометаболіти, алелопатія, фітопатогенні мікроміцети, бактерії.

Коренева система культурних рослин виділяє у ризосферний ґрунт значну кількість потенційно цінних біологічно активних алелопатичних речовини [1]. Вони є складовими донорно-акцепторної взаємодії між рослинами і мікроорганізмами в агроценозах [2]. Відомо, що ризосфера рослин є динамічною системою взаємодії кореневої системи з патогенними та сапротрофними мікроорганізмами у ґрунтового ценозі. У ній накопичується основна маса легких і водорозчинних речовин (близько 68–99%), відбувається обмін метаболітами між вищими рослинами та мікроорганізмами [3]. Кореневі екзометаболіти рослин мають значний екологічний вплив на мікробіоту ґрунту і на рослини. Біологічно активні сполуки у ризосфері рослин впливають на мікробний ценоз ґрунту, стійкість рослин до шкідників, підтримують корисну для рослини симбіотичну взаємодію, змінюють фізичні та хімічні властивості ґрунту і гальмують зростання конкурентних видів рослин [4].

До складу екзометаболітів входять: феноли, флаваноїди, глікозиди флаваноїдів,

алкалоїди, які обумовлюють конкурентну взаємодію між рослинами, розповсюдження інвазійних видів та механізми захисту рослин від патогенних мікроорганізмів і шкідників [5]. Крім того, алелопатичні речовини містять низькомолекулярні сполуки, як-от: цукри, вітаміни, нуклеотиди, амінокислоти та феноліти, а також високомолекулярні речовини — полісахариди, ферменти та інші білки [6].

Соняшник, завдяки високому алелопатичному потенціалу, може активно впливати як на конкурентні рослини, так і на патогенні мікроорганізми, які його колонізують. Понад 200 природних алелопатичних сполук було виділено із різних сортів і гібридів соняшнику [7, 8]. Фітопатогенні мікроорганізми є одним із вагомих біотичних чинників зниження біобезпеки рослинної продукції [9]. На вегетативних органах рослин соняшнику спостерігається інтенсивний розвиток хвороб грибної етіології. Найнебезпечнішими фітопатогенними видами, які можуть паразитувати впродовж онтогенезу на рослинах та на насінні соняшнику, є гриби роду *Alternaria* Nees [10]. Ураження ними насіння та рос-

лин соняшнику може призводити до збільшення кількісних і якісних втрат урожаю як упродовж вегетації культури, так і під час зберігання насіння [11].

Гриби вказаного роду утворюють близько 70 видів міко- та фітотоксинів, серед яких особливо небезпечними для здоров'я людини і тварин є: альтернاریол, альтертоксин та альтернاریол монометил [12].

У численних зарубіжних дослідженнях значна увага приділяється вивченню взаємодії культурних рослин з мікробною біотою як у ризосферному ґрунті, так і на вегетативних органах рослин [13]. Але для регуляції чисельності фітопатогенних мікроміцетів у ґрунті, особливо за вирощування соняшнику в Україні, необхідно посилити теоретичне обґрунтування цього процесу шляхом розкриття механізмів впливу корневих екзосметаболітів рослин на фізіолого-біохімічні показники фітопатогенних мікроміцетів — збудників основних хвороб соняшнику та інших сільськогосподарських культур.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліджували вплив екзосметаболітів проростків різних гібридів соняшнику (Душко, Олівер та Оскар) на швидкість радіального росту міцелію гриба *A. alternata* — збудника альтернاریозу соняшнику. Екзосметаболіти рослин отримували за методикою Г.Ф. Наумова [14], яку модифікували під досліджувану культуру. Відбирали 50 насінин кожного досліджуваного гібрида, потім стерилізували та пророщували відповідно до ДСТУ 4138 [15]. Від кожного гібрида відбирали 10 проростків, поміщали в чашки Петрі із стерильною дистильованою водою і витримували впродовж 72 год на розсіяному світлі при температурі 22–24°C. Екsudати змивали і фільтрували через мікропористі бактеріальні фільтри (0,02 мкм). Ізоляти гриба *A. alternata* культивували на середовищі Чапека із додаванням 3 мл екsudатів рослин до 7 мл середовища. У досліді як контроль використовували два варіанти: контроль 1 (К₁) — стерильна дистильована вода; контроль 2 (К₂) — екзосметаболіти проростків насіння

соняшнику, вирощеного за традиційною технологією.

Швидкість радіального росту міцелію грибів визначали за формулою:

$$Kr = (r_1 - r_0) \div (t_1 - t_0),$$

де Kr — радіальна швидкість росту колоній; r_0 — радіус колоній у момент часу t_0 ; r_1 — радіус колоній у момент часу t_1 [16].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами досліджень встановлено, що швидкість радіального росту міцелію гриба *A. alternata* на першу добу субкультивування з корневими екзосметаболітами рослин соняшнику, вирощених в умовах контрольного варіанта (К₁), становила 0,017 мм/год, тоді як на другу та третю добу цей показник зменшувався на 0,004 мм/год (рис. 1).

На початкових етапах (перша доба) субкультивування з корневими метаболітами рослин гібрида соняшнику Душко, вирощеними за традиційною технологією (К₂ еталон — традиційна технологія), спостерігалась найнижча швидкість радіального росту міцелію, що становила 0,014 мм/год, тобто на 0,003 мм/год була нижчою, ніж у варіанті К₁. Поряд із тим на фоні екзосметаболітів гібридів Олівер та Оскар у вказаному варіанті швидкість радіального росту колоній гриба була на 0,002 мм/год вищою, ніж на фоні метаболітів рослин гібрида Душко — у межах контролю (К₁). Це свідчить, що на початкових етапах субкультивування антифунгальна властивість корневих екзосметаболітів рослин випробовуваних гібридів соняшнику істотно залежить як від генотипу гібрида, так і від технології його вирощування. Тому швидкість радіального росту міцелію мікроміцетів можна вважати показником антифунгальної властивості корневих екзосметаболітів рослин.

На другу добу субкультивування міцелію ізолятів гриба *A. alternata* з екзосметаболітами рослин гібридів Душко та Олівер, вирощених в умовах варіанта К₂, спостерігалось зниження швидкості радіального росту міцелію ізолятів гриба до

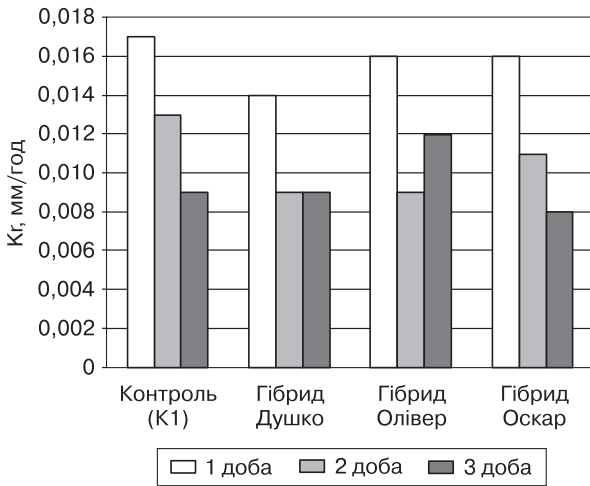


Рис. 1. Швидкість радіального росту (Kr) міцелію гриба *A. alternata* за впливу корневих екзометаболітів рослин гібридів соняшнику, вирощених за традиційною технологією

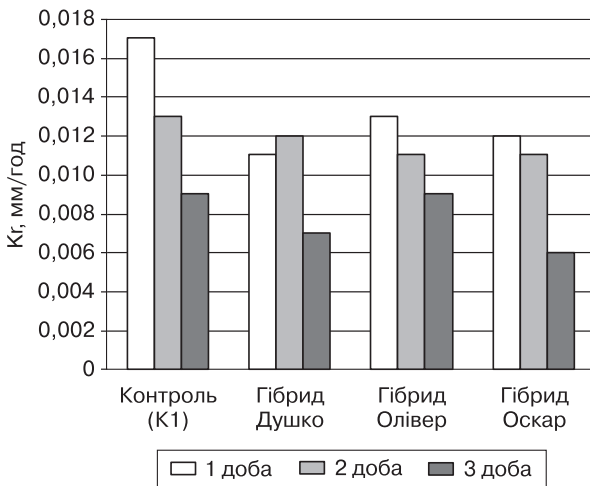


Рис. 2. Швидкість радіального росту (Kr) міцелію гриба *A. alternata* за впливу корневих екзометаболітів гібридів соняшнику, вирощених за органічною технологією

0,009 мм/год, що на 0,002 мм/год менше, ніж на фоні екзометаболітів проростків гібрида Оскар. Отримані результати дають підстави припустити, що кореневі екзометаболіти гібридів Душко та Олівер за

традиційної технології вирощування рослин мають вищу антифунгальну активність порівняно із гібридом Оскар.

Упродовж третьої доби субкультивування колоній гриба з корневими екзометаболітами рослин гібрида Олівер спостерігалось підвищення швидкості радіального росту міцелію на 0,003 мм/год порівняно із варіантом K_1 , тоді як за впливу екзометаболітів рослин гібридів Душко та Оскар швидкість радіального росту варіювала у межах K_1 . Отримані результати дають підстави вважати, що сортові властивості рослин значною мірою впливають на динаміку росту міцелію гриба *A. alternata*.

Найнижчу швидкість радіального росту міцелію гриба *A. alternata* зафіксовано впродовж першої доби субкультивування з екзометаболітами рослин різних гібридів соняшнику, вирощених за органічною технологією, порівняно з варіантами K_1 та K_2 (рис. 2). На фоні корневих екзометаболітів рослин гібрида Душко цей показник становив 0,011 мм/год, що на 0,006 та 0,003 мм/год менше, ніж у варіанті K_1 та K_2 відповідно. Швидкість радіального росту міцелію досліджуваного гриба на фоні корневих екзометаболітів проростків гібридів Олівер та Оскар, вирощених за органічною технологією, варіювала у межах значень цього показника у варіанті K_1 , але була на 0,003 та 0,004 мм/год нижчою, ніж у варіанті K_2 відповідно. Отже, можна припустити, що антифунгальні властивості корневих екзометаболітів рослин гібридів соняшнику, вирощених за органічною технологією, мають здатність більшою мірою стримувати ріст та розвиток міцелію гриба порівняно із корневими екзометаболітами рослин, вирощених за традиційною технологією.

На другу добу субкультивування спостерігалось подальше пригнічення швидко-

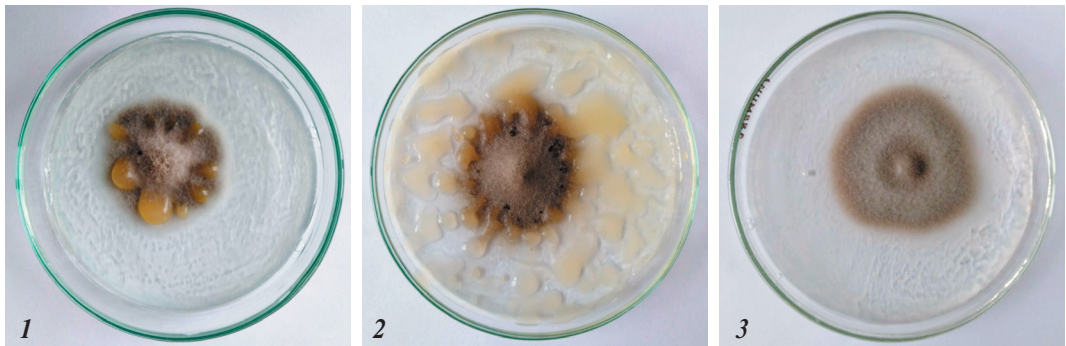


Рис. 3. Колонії гриба *A. alternata*, колонізовані бактеріями: 1 — *Micrococcus kristinae*; 2 — *Micrococcus varians*; 3 — контроль, без утворення бактерій

сті радіального росту міцелію досліджуваного ізоляту порівняно із контролем (K_1). Так, на фоні екзометаболітів проростків гібрида Душко цей показник був на 0,003 одиниці більшим, ніж у варіанті K_2 , та на 0,001 мм/год меншим, ніж у варіанті K_1 . Поряд із тим швидкість радіального росту міцелію гриба *A. alternata* на фоні екзометаболітів гібридів Олівер та Оскар дещо пригнічувалась (0,002 мм/год) порівняно з відповідними показниками варіантів K_1 і K_2 (рис. 2).

На третю добу спостерігалось істотне зниження швидкості радіального росту міцелію за впливу кореневих екзометаболітів соняшнику гібридів Душко та Оскар. Найнижчу швидкість радіального росту міцелію досліджуваного ізоляту зафіксовано за впливу кореневих екзометаболітів рослин гібрида Оскар –0,006 мм/год, що на 0,003 та 0,002 мм/год менше, ніж у варіантах K_1 та K_2 відповідно. Однак на фоні екзометаболітів рослин гібрида Олівер цей показник був на рівні свого значення у варіанті K_1 , що на 0,003 мм/год нижче, ніж у варіанті K_2 . На підставі отриманих результатів можна констатувати, що кореневі екзометаболіти рослин гібридів соняшнику, вирощених за органічною технологією, характеризуються більш вираженою антифунгальною властивістю порівняно з кореневими екзометаболітами рослин, вирощених за традиційною технологією.

Серед асоціативних мікроорганізмів, що заселяють клітини культурних рослин,

виділено групу ендоефітних бактерій, які утворюють стабільні асоціації з рослинами і можуть стимулювати їх стійкість до фітопатогенних мікроорганізмів та покращувати ріст і розвиток рослин. До таких мікроорганізмів належать бактерії роду *Micrococcus* sp., які було виявлено в процесі досліджень на колоніях гриба *A. alternata* (рис. 3). Ці бактерії є кокоподібними Γ^+ культурами, які проявляють каталазну активність [16].

Існує чимало фактів, що свідчать про можливість бактерій роду *Micrococcus* sp. стимулювати ріст і розвиток рослин шляхом постачання їм біологічного азоту, фітогормонів, а також виділення метаболітів з антимікробною дією, здатних захищати рослини від захворювань, спричинених патогенними мікроорганізмами [17].

Бактерії роду *Micrococcus*, які характеризуються високою стимулюючою дією щодо культурних рослин, можуть допомагати сприйнятливим до контамінації сортам і гібридам сільськогосподарських культур проявляти підвищену стійкість до некротрофних мікроміцетів. Тому виділені ізоляти було пересіяно в робочу колекцію, яку використали для подальшого вивчення взаємодії у системі «рослина – живитель – мікроміцети – бактерія».

ВИСНОВКИ

Кореневі екзометаболіти гібридів соняшнику Душко та Олівер за традиційної технології вирощування рослин характери-

зуються вищою антифунгальною здатністю порівняно із кореневими екзометаболітами гібрида Оскар. Сортові властивості рослин значною мірою впливають на динаміку росту міцелію гриба *A. alternata*.

Кореневі екзометаболіти рослин гібридів соняшнику, вирощених за органічною технологією, можуть більшою мірою стримувати ріст та розвиток міцелію гриба порівняно із рослинами, вирощеними за тра-

диційною технологією, що свідчить про їх вищу антифунгальну властивість порівняно з екзометаболітами рослин, вирощених за традиційною технологією.

Ізоляти ендоефітних бактерій, що виділені із рослин соняшнику, вирощеного за традиційною та органічною технологіями, належать до видів *Micrococcus kristinae* та *Micrococcus varians*, що здатні інтенсивно колонізувати колонії гриба *A. alternata*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Cheng F. Research Progress on the use of Plant Allelopathy in Agriculture and the Physiological and Ecological Mechanisms of Allelopathy / F. Cheng // *Frontiers in Plant Science*. — 2015. — No. 6. — P. 1020.
2. Демиденко О.В. Фізіологічна активність сільськогосподарських культур та відтворення родючості чорноземів в агроценозах / О.В. Демиденко // *Фізіологія і біохімія культурних рослин*. — 2013. — Т. 45, № 3. — С. 213–221.
3. Елланська Н.Е. Мікробні угруповання та біологічна активність прикореневого ґрунту рослин *Phlox paniculata* L. / Н.Е. Елланська, П.І. Скрипка, О.П. Юношева // *Вісник Одеського національного університету*. — 2017. — Т. 22. — Вип. 2. — С. 67–75.
4. Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity / C.D. Broeckling, A.K. Broz, J. Bergelson [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2008. — Vol. 74. — P. 738–744.
5. Юношева О.П. Специфіка мікробних угруповань інтродукованих рослин *Lavandula angustifolia* Mill. / О.П. Юношева, Н.Е. Елланська // *Ґрунтознавство*. — 2015. — Т. 16. — № 1–2. — С. 66–74.
6. Plant sars are the possible source of allelochemicals that can be useful in promoting sustainable agriculture / A. Iqbal, M. Namayun, Z.H. Khan [et al.] // *Fresenius Environmental Bulletin*. — 2019. — Vol. 28 (2 A). — P. 1040–1049.
7. Kamal J. Potential allelopathic effects of sunflower (*Helianthus annuus* L.) on microorganisms / J. Kamal, A. Vano // *African Journal of Biotechnology*. — 2008. — Vol. 7 (22). — P. 4208–4211.
8. Петренко В.П. Стан і перспективи селекції соняшнику на стійкість до хвороб / В.П. Петренко // *Стойкість соняшнику до біо- та абіотичних чинників: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції (Харків, 24–25 червня 2014 р.)*. — Х., 2014. — С. 16–17.
9. Боровська І.Ю. Закономірності використання інфекційного фону фомопсису / І.Ю. Боровська // *Вісник Сумського національного аграрного університету*. — 2016. — Вип. 9. — С. 24–28.
10. Sunflower stalk diseases initiated through leaf infections / R.M. Harveson, F.M. Mathew, T.J. Gulya [et al.] // *Plant Health Prog.* — 2018. — Vol. 19. — P. 82–91.
11. Distribution frequency and incidence of seed-borne pathogens of some cereals and industrial crops in Serbia / J. Lević, S. Stanković, V. Krnjaja [et al.] // *Pestic. Phytomed.* — 2012. — Vol. 27 (1). — P. 33–40.
12. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of Alternaria toxins in feed and food: EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) [Електронний ресурс] // *EFSA Journal*. — 2011. — Vol. 9 (10). — Режим доступу: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2011.2407>
13. Bruinsma M. Effects of Genetically Modified Plants on Soil Ecosystem / M. Bruinsma, G.A. Kowalchuk, J.A. Veen // *Biology and Fertility of Soils*. — 2003. — Vol. 37 (6). — P. 329–337.
14. Наумов Г.Ф. Аллелопатические свойства выделенных прорастающих семян полевых культур и их сельскохозяйственное значение / Г.Ф. Наумов // *Аллелопатия и продуктивность растений*. — Х., 1988. — С. 5–12.
15. Насіння сільськогосподарських культур: Методи визначення якості: ДСТУ 4138:2002. — [Чинний від 2004-01-01]. — К.: Держстандарт України, 2002. — 141 с. — (Національний стандарт України).
16. Безноска І.В. Вплив метаболітів сортів перця солодкого на інтенсивність спорування мікроміцета *Alternaria solani* (Ell. et Mart.) / І.В. Безноска // *Агроекологічний журнал*. — 2013. — № 2. — С. 106–109.
17. Особливості взаємодії бактеріального штаму *Micrococcus luteus* ЛБК1 з рослинами сортів/гібридів огірка і перцю солодкого та з грибом *Fusarium oxysporum* sacc. / А. Парфенюк, О. Стерлікова, І. Безноска, В. Круть // *Мікробіологічний журнал*. — 2014. — Т. 76. — № 1. — С. 33–37.

REFERENCES

1. Cheng, F. (2015). Research Progress on the use of Plant Allelopathy in Agriculture and the Physiological and Ecological Mechanisms of Allelopathy. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1020 [in English].

2. Demydenko, O.V. (2013). Fiziologichna aktivnist silskohospodarskykh kultur ta vidtvorennia rodiuchosti chornozemiv v ahrotsenozakh [Physiological activity of crops and reproduction of chernozem fertility in agrocenoses]. *Fyziologiya y byokhymiya kulturnykh rastenyi – Physiology and biochemistry of crops*, 45 (3), 213–221 [in Ukrainian].
3. Ellanska, N.E., Skrypka, O.P., Yunosheva, H.I. (2017). Mikrobni uhrupovannia ta biolohichna aktivnist prykorenevoho gruntu Roslyn *Phlox paniculata* L. [Microbial grouping and biological activity of rootstock of plants *Phlox paniculata* L.]. *Visnyk Odeskoho natsionalnoho universytetu – Bulletin of the Odessa National Universit*, 22 (2), 67–75 [in Ukrainian].
4. Broeckling, C.D., Broz, A.K., Bergelson, J., Manner, D.K., Vivanco, J.M. (2008). Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity. *Appl. Environ. Microbiol*, 74, 738–744 [in English].
5. Yunosheva, O.P., Ellanska, N.E. (2015). Spetsyfyka mikrobynykh uhrupovan introdukovanykh Roslyn *Lavandula angustifolia* Mill. [Specificity of microbial groups of introduced plants *Lavandula angustifolia* Mill.]. *Hruntoznavstvo – Soil sciens*, 16 (1–2), 66–74 [in Ukrainian].
6. Iqbal, A., Hamayun, M., Khan, Z.H. [et al.] (2019). Plants are the possible source of allelochemicals that can be useful in promoting sustainable agriculture. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28 (2A), 1040–1049 [in English].
7. Kamal, J., Bano, A. (2008). Potential allelopathic effects of sunflower (*Helianthus annuus* L.) on microorganisms. *African Journal of Biotechnology*, 7 (22), 4208–4211 [in English].
8. Petrenkova, V.P. (2014). Stan i perspektyvy selektsii soniashnyku na stiikist do khvorob [Condition and prospects of selection of sunflower for resistance to diseases]. Stiikist soniashnyku do bio- ta abiotychnykh chynnykiv [Stability of sunflower to bio- and abiotic factors] '14: *Mizhnar. nauk.-prakt. konf. (24–25 chernya 2014 r.) – International scientific and practical conference*. (pp. 16–17). Kharkiv [in Ukrainian].
9. Borovska, I.Yu. (2016). Zakonomirnosti vykorystannia infektsiinoho fonu fomopsysu [Patterns of use infectious background fomopsis]. *Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahramoho universytetu – Bulletin of the Sumy National Agrarian University*, 9, 24–28 [in Ukrainian].
10. Harveson, R.M., Mathew, M.F., Gulya, T.J., Markell, S.G., Block, C.C., Thompson, S. (2018). Sunflower stalk diseases initiated through leaf infections. *Plant Health Prog.*, 19, 82–91 [in English].
11. Lević, J., Stanković, S., Krnjaja, V. [et al.]. (2012). Distribution frequency and incidence of seed-borne pathogens of some cereals and industrial crops in Serbia. *Pestic. Phytomed.*, 27 (1), 33–40 [in English].
12. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) (2011). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria toxins* feed and food. *EFSA Journal*, 9 (10): 2407. Retrieved from <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2011.2407> [in English].
13. Bruinsma, M., Kowalchuk, G.A., Veen, J.A. (2003). Effects of Genetically Modified Plants on Soil Ecosystem. *Biology and Fertility of Soils*, 37 (6), 329–337 [in English].
14. Naumov, G.F. (1988). Allelopaticheskie svojstva vydelenij prorastajushhih semjan polevykh kul'tur i ih sel'skohozejstvennoe znachenie [Allelopathic properties of secretions of germinating seeds of field crops and their agricultural significance]. *Allelopatijai produktivnost' rastenij [Allopathy and plant productivity]*. Kharkov [in Russian].
15. Nasinnia silskohospodarskykh kultur. Metody vyznachennia yakosti [Seeds of agricultural plants. Methods for quality determination]. (2002). *DSTU 4138:2002 from 01 January 2004*. Kyiv: Derzhspozhyv standart Ukrainy [in Ukrainian].
16. Beznosko, I. (2013). Vplyv metabolitiv sortiv Percyva solodkogo na intensyvnyv sporoutvorennya mikro-miceta *Alternaria solani* (Ell. et Mart.) [Effect of metabolites of sweet pepper varieties on the spore formation intensity of the micronucleus *Alternaria solani* (Ell. et Mart.)]. *Ahroekologichnyi zhurnal – Agroecological Journal*, 2, 106–109 [in Ukrainian].
17. Parfeniuk, A., Sterlikova, O., Beznosko, I., Krut, V. (2014). Osoblyvosti vzaïemodii bakterialnoho shtamu *Micrococcus luteus* LBK1 z roslynamy sortiv/hibrydiv ohirka i pertsii solodkoho ta z hrybom *Fusarium oxysporum* scelecht [Features of the interaction of *Micrococcus luteus* BCK1 bacterial strains with sweet / cucumber / sweetpepper / hybrids plant and *Fusarium oxysporum* scelecht]. *Mikrobiolohichnyi zhurnal – Microbiological journal*, 76 (1), 33–37 [in Ukrainian].

Стаття надійшла до редакції журналу
30.04.2019